



TITLE:

# STEM細胞バイオロジーによる 膵島再生治療法の開発

AUTHOR(S):

角, 昭一郎

---

CITATION:

角, 昭一郎. STEM細胞バイオロジーによる膵島再生治療法の開発.  
2004

ISSUE DATE:

2004-03

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/84936>

RIGHT:

学術雑誌掲載論文の抜き刷り、出版社に著作権許諾が得られていない  
ため未掲載。

# ステムセルバイオロジーによる 臍島再生治療法の開発

(研究課題番号 13854020)

平成 13 年度～平成 15 年度科学研究費補助金  
(基盤研究(S))

研究成果報告書



平成 16 年 3 月

研究代表者 井上 一知

角 昭一郎 (平成 15 年度)

(京都大学再生医科学研究所)

# ステムセルバイオロジーによる 臍島再生治療法の開発

(研究課題番号 13854020)

平成 13 年度～平成 15 年度科学研究費補助金  
(基盤研究(S))

研究成果報告書

平成 16 年 3 月

研究代表者 井上 一知

角 昭一郎 (平成 15 年度)

(京都大学再生医科学研究所)



## はしがき

近年著しい増加を示す糖尿病は重篤な合併症を伴うことも多く、その治療対策は緊急性を伴う重要課題である。

膵島細胞移植治療は、難治性糖尿病の根本的治療法として注目されており、世界的には Alberta 大学の Edmonton protocol によるヒト膵島細胞移植の優秀な臨床成果が報告されているが、免疫抑制剤の弊害や深刻なドナー不足などの問題は解決されていない。また、わが国の重症糖尿病治療は依然としてインスリン補充療法に依存しており、合併症の発症や進行を阻止できない場合が多い。我々はこれらの課題に対して、バイオ人工膵の開発研究を展開し、糖尿病に対する根本的かつ普遍的な医療を実現させる準備を進めてきた。一方、移植医療で問題となるドナー不足の解消に幹細胞を応用しようという研究が進められており、特に、1998 年ヒト胚性幹 (ES) 細胞の樹立以降、幹細胞システムの解明や再生医学・医療への応用が急速に展開されつつある。幹細胞や ES 細胞から膵島細胞あるいはインスリン産生細胞への分化機構は未解明であり、これらの機構を解明して、分化細胞を我々が研究展開中のバイオ人工膵に組み込んで移植医療へ応用することができれば、膵島再生医療の画期的な進展をもたらし、糖尿病治療の新局面を生み出すと考えられる。

すでに我々は、膵島細胞の分離方法、高分子免疫隔離膜デバイス作製方法、これらを組み合わせた膵島細胞移植技術、さらには、低浸襲移植医療を目指した新生血管誘導方法などの研究を展開し、糖尿病に対する根本的かつ普遍的な治療法としてのバイオ人工膵を開発する上で必要な多くの成果を報告している。本研究では、これらバイオ人工膵移植研究のさらなる展開を計るとともに、これとの融合を目指して、幹細胞・ES 細胞から膵島様細胞を分化誘導する技術を研究した。

## 研究組織

研究代表者：井上 一知 (京都大学・再生医科学研究所・教授)	(平成 13～15 年 4 月)
角 昭一郎 (京都大学・再生医科学研究所・助教授)	(平成 15 年度)
研究分担者：中辻 憲夫 (京都大学・再生医科学研究所・教授)	(平成 13～14 年度)
田畑 泰彦 (京都大学・再生医科学研究所・教授)	(平成 13～15 年度)
宮崎 純一 (大阪大学・医学系研究科・教授)	(平成 13～15 年度)
角 昭一郎 (京都大学・再生医科学研究所・助教授)	(平成 14 年度)

## 研究経費

	経費	間接経費	合計
平成 13 年度	19,700 千円	5,910 千円	25,610 千円
平成 14 年度	15,200 千円	4,560 千円	19,760 千円
平成 15 年度	19,000 千円	5,700 千円	24,700 千円
計	53,900 千円	16,170 千円	70,070 千円

# 研究発表

## 学会誌等

- 1 Kawakami Y, Iwata H, Gu Y, Miyamoto M, Murakami Y, Balamurugan AN, Imamura M, Inoue K. Successful subcutaneous pancreatic islet transplantation using angiogenic growth factor releasing device. *Pancreas* 23: 375-378, 2001
- 2 Miyamoto M, Balamurugan AN, Morimoto Y, Nozawa Y, Sakurai T, Xu BY, Yoshimura S, Tanaka T, Tohyama T, Inoue K. Development of cryopreservation procedure of freezer bag for pancreatic islets using newly developed cryoprotectant. *Cell Transplant* 10: 363-371, 2001
- 3 Xu BY, Iwata H, Gu Y, Balamurugan AN, Murakami Y, Cui WX, Imamura M, Inoue K. Functional comparison of the agarose microbeads and the developed three layer agarose microbeads as the bioartificial pancreas : An in vitro study. *Cell Transplant* 10: 403-408, 2001
- 4 Xu BY, Gu YJ, Miyamoto M, Balamurugan AN, Cui WX, Imamura M, Iwata H, Inoue K. The influence of anticomplement synthetic sulfonic polymers on function of pancreatic islets: an in vitro study. *Cell Transplant* 10: 413-417, 2001
- 5 Nagata N, Gu Y, Hori H, Balamurugan AN, Toma M, Kawakami Y, Wang WJ, Satake A, Misawa Y, Baba T, Miyamoto M, Nozawa M, Tabata Y, Inoue K. Evaluation of insulin secretion of isolated rat islets cultured in extracellular matrix. *Cell Transplant* 10: 447-451, 2001
- 6 Gu Y, Tabata Y, Kawakami Y, Balamurugan AN, Hori H, Nagata N, Satake A, Cui WX, Qi M, Misawa Y, Toma M, Miyamoto M, Nozawa M, Inoue K. Development of a new method to induce angiogenesis at subcutaneous site of streptozotocin-induced diabetic rats for islet transplantation. *Cell Transplant* 10: 453-457, 2001
- 7 Hori H, Gu Y, Nagata N, Balamurugan AN, Satake A, Morimoto Y, Wang WJ, Misawa Y, Nozawa Y, Nembai T, Miyamoto M, Nozawa M, Inoue K. Isolation, culture and characterization of endocrine cells from six-months-old porcine pancreas. *Cell Transplant* 10: 459-464, 2001
- 8 Wang WJ, Gu Y, Miyamoto M, Hori H, Nagata N, Balamurugan AN, Inoue K. Effect of basic fibroblast growth factor on insulin secretion from micro-encapsulated pancreatic islets; An in vitro study. *Cell Transplant* 10: 465-471, 2001
- 9 Kinoshita N, Echigo Y, Shinohara S, Gu Y, Miyazaki J, Inoue K, Imamura M. Regulation of cell proliferation using tissue engineering in MIN6 cells. *Cell Transplant* 10: 473-477, 2001
- 1 0 Cui WX, Kim DH, Imamura M, Hyon SH, Inoue K.: The tissue-engineering pancreatic islets. Culturing the rat islets in the chitosan sponge. *Cell Transplant* 10: 499-502, 2001
- 1 1 Wang WJ, Gu Y, Tabata Y, Miyamoto M, Hori H, Nagata N, Toma M, Balamurugan AN, Kawakami Y, Nozawa M, Inoue K. Reversal of diabetes in mice by xenotransplantation of bioartificial pancreas in a prevascularized subcutaneous site. *Transplantation* 73: 122-129, 2002
- 1 2 Balamurugan AN, Gu Y, Miyamoto M, Wang WJ, Inoue K, Tabata Y. Streptozotocin (STZ) is commonly used to induce diabetes in animal models. *Pancreas*. 26: 102-3, 2003
- 1 3 Balamurugan AN, Gu Y, Miyamoto M, Hori H, Inoue K, Tabata Y. Hepatocyte growth factor (HGF) is a mitogen and an insulinotropic agent for fetal islet cells in vitro. *Pancreas*. 26: 103-4, 2003
- 1 4 Watanabe H, Sumi S, Kitamura Y, Nio Y, Higami H. Immunohistochemical analysis of vascular endothelial growth factor and hepatocyte growth factor, and their receptors, in transplanted islets in rats. *Surgery Today* 33: 854-860, 2003
- 1 5 Wang WJ, Gu Y, Hori H, Sakurai T, Hiura A, Sumi S, Inoue K. Subcutaneous transplantation of macroencapsulated porcine pancreatic endocrine cells normalizes hyperglycemia in diabetic mice. *Transplantation* 76: 290-296, 2003
- 1 6 Balamurugan AN, Gu YJ, Tabata Y, Miyamoto M, Cui WX, Hori H, Satake A, Nagata N, Wang WJ, Inoue K. Bioartificial pancreas transplantation at prevascularized intermuscular space: Effect of angiogenesis induction on islet survival. *Pancreas*

26:279-285, 2003

- 1 7 Kim DH, Ishii M, Fujimiya M, Qi MG, Nakamura N, Yoshikawa T, Sumi S, Inoue K. In vivo functioning and transplantable mature pancreatic islet-like cell clusters differentiated from embryonic stem cell. *Pancreas* 27: e34-e41, 2003
- 1 8 Sakurai S, Satake A, Nagata N, Gu Y, Hiura A, Kim DH, Hori H, Tabata Y, Sumi S, Inoue K. The development of new immunoisulatory devices possessing the ability to induce neovascularization. *Cell Transplantation* 12: 527-535, 2003
- 1 9 Qi MG, Gu Y, Sakata N, Kim DH, Shirouzu Y, Yamamoto C, Hiura A, Sumi S, Inoue K. PVA hydrogel sheet macroencapsulation for the bioartificial pancreas. *Biomaterials* (in press)
- 2 0 堀 洋, 顧 元駿, 井上 一知: 6人工臓器 ハイブリッド型人工臓器の現状. *外科* 63:311-317, 2001
- 2 1 顧 元駿, 堀 洋, 井上 一知: 再生医学における膵細胞の分離・移植法. *Surgery Frontier* 8: 316-322, 2001
- 2 2 日裏 彰人, 井上 一知: 消化器外科と再生医学. *消化器外科* 24: 1653-1661, 2001
- 2 3 櫻井 智徳, 顧 元駿, 井上 一知: 人工膵臓研究の再先端. *臨床外科* 56: 27-33, 2001
- 2 4 櫻井 智徳, 井上 一知: 人工膵臓. *小児科診療* 61: 2201-2206, 2001
- 2 5 顧 元駿, 長田 奈津紀, 櫻井 智徳, 井上 一知: 膵臓の再生. 先端医療シリーズ 消化器疾患 消化器疾患の最新医療 p178-182, 2001
- 2 6 堀 洋, 井上 一知: 再生膵島細胞移植の現状と展望. *日本再生医療学会誌* 1: 69-77, 2002
- 2 7 井上 一知: 膵島再生医療. *糖尿病学の進歩* 2002 p229-234, 2002
- 2 8 井上 一知: 再生医療. 1型DMフォーラムレポート: 21世紀のニッポンの1型DM医療のあり方を求めて. p33-34, 2002
- 2 9 日裏 彰人, 井上 一知: バイオ人工膵. 新時代の糖尿病学—病因・診断・治療の進歩—. *日本臨牀* 増刊号 p625-630, 2002
- 3 0 井上 一知, 清野 裕: ES細胞とインスリン分泌. *D I T N* 293: 2-3, 2002
- 3 1 井上 一知: ES細胞から膵島細胞作製. *べんちのーと* 15: 7, 2002
- 3 2 井上 一知, 大串 始, 小林 英司, 塚田 敬義: 再生医療の将来展望—臨床応用への展望. *Medico* 33: 19-32, 2002
- 3 3 井上 一知: 幹細胞と再生医療—臨床応用の展望—. *細胞* 34: 2-3, 2002
- 3 4 角 昭一郎, 北村 義則, 遠藤 真一郎, 井上 一知: 膵切除と膵の再生に関する研究. *日本アフエレシス学会雑誌* 21: 141-144, 2002
- 3 5 角 昭一郎, 井上 一知: 糖尿病と再生医療. *Medico* 33: 1-4, 2002
- 3 6 日裏 彰人, 櫻井 智徳, 堀 洋, 顧 元駿, 井上 一知: バイオ人工膵 特集 糖尿病と再生医療. *Diabetes Frontier*: 13: 55-59, 2002
- 3 7 日裏 彰人, 井上 一知: *Tissue Engineering* の外科領域への応用. *Surgery Frontier* 9: 35-40, 2002
- 3 8 日裏 彰人, 井上 一知: 膵ラ島移植. *成人病と生活習慣病* 32: 777-779, 2002
- 3 9 堀 洋, 井上 一知: 膵島の再生医療 再生医療の展望. *Medicina* 39: 500-505, 2002
- 4 0 金 度勲, 顧 元駿, 井上 一知: 幹細胞と糖尿病治療. *細胞* 34: 25-27, 2002
- 4 1 角 昭一郎, 井上 一知: 膵移植—現状と展望. 戸田剛太郎ほか編, *Annual Review* 2003 消化器. 中外医療社. p68-73, 2003
- 4 2 角 昭一郎, 顧 元駿, 日裏 彰人, 井上 一知: 総説 幹細胞・ES細胞—膵臓. *再生医療* 2: 71-76, 2003
- 4 3 日裏 彰人, 井上 一知: 糖尿病における移植・再生医療の展望. *内科* 91: 128-129, 2003
- 4 4 井上 一知, 日裏 彰人, 角 昭一郎: 再生医療研究開発の歩みと将来への展望. *日本臨牀* 61: 363-369, 2003
- 4 5 角 昭一郎, 日裏 彰人, 顧 元駿, 井上 一知: 再生医療の膵島移植への応用. *移植* 38: 133-136, 2003
- 4 6 井上 一知: 膵島再生医療の現状と展望. *日本人工臓器学会* 32: 37-45, 2003

口頭発表

第28回膵臓膵島移植研究会 (2001.3.3.奈良)

- 1 顧 元駿, 堀 洋, 田畑 泰彦, 長田 奈津紀, 櫻井 智徳, 金 度勲, 奇 梅日更, 王 文敬, 三澤 裕子, 佐竹 晃, 井上 一知: バイオ人工膵におけるコラーゲンコーティングによる血管新生誘導能に関する検討.
- 2 宮本 正章, 井上 一知: 膵島移植の将来展望.

第101回日本外科学会総会 (2001.4.11.仙台)

- 3 櫻井 智徳, 顧 元駿, 川上 義行, 堀 洋, 長田 奈津紀, 藤間 真紀, Balamurugan AN, 金 度勲, 佐竹 晃, 田畑 泰彦, 野澤 真澄, 井上 一知: 血管新生誘導能を有するバイオ人工膵の開発.  
森元 良彦, 顧 元駿, 堀 洋, 長田 奈津紀, 藤間 真紀, 三澤 裕子, 野澤 真澄, 井上 一知: 培養ブタ膵内分泌細胞の移植応用.

第9回細胞療法研究会 (2001.4.21.松本)

- 4 三澤 裕子, 堀 洋, 顧 元駿, 長田 奈津紀, 藤間 真紀, 王 文敬, 森反 俊幸, 野澤 真澄, 井上 一知: シンポジウム ブタ膵臓由来内分泌細胞単離法の改良と移植応用性の検討.
- 5 櫻井 智徳, 顧 元駿, 堀 洋, 長田 奈津紀, 藤間 真紀, 金 度勲, 佐竹 晃, 宮本 正章, 田畑 泰彦, 野澤 真澄, 井上 一知: バイオ人工膵皮下移植における血管新生誘導法の検討.
- 6 王 文敬, 顧 元駿, 田畑 泰彦, 宮本 正章, 堀 洋, 長田 奈津紀, 藤間 真紀, Balamurugan AN, 川上 義行, 岩田 博夫, 野澤 真澄, 井上 一知: Xenotransplantation of agarose hydrogel-based bioartificial pancreas into neovascularized subcutaneous site of mouse.
- 7 三澤 裕子, 堀 洋, 顧 元駿, 長田 奈津紀, 藤間 真紀, 森反 俊幸, 野澤 真澄, 井上 一知: ブタ膵内分泌細胞分離・培養法の改良に関する検討.

日本膵臓学会第32回大会 (2001.7.13 北九州)

- 8 佐竹 晃, 顧 元駿, 井上 一知: ワークショップ バイオ人工膵臓による皮下・筋肉間同種移植の検討; 血管誘導処置の効果.

第56回日本消化器外科学会総会 (2001.7.26 秋田)

- 9 佐竹 晃, 顧 元駿, 王 文敬, 宮本 正章, 佐竹 克介, 野澤 真澄, 井上 一知: シンポジウム消化器外科領域の再生医学 再生医学的手法によるバイオ人工膵移植の検討.

International Surgical Week 2001 (2001.8.28, Brussels)

- 10 Satake A, Gu Y, Balamurugan AN, Hori H, Nagata N, Touma M, Sakurai T, Misawa Y, Kim DH, Cui WX, Wang WJ, Miyamoto M, Satake K, Nozawa M, Inoue K. Surgical and function of the transplants islet-allograft at prevascularized subcutaneous and intermuscular site; effectiveness of angiogenesis induction.

第63回日本臨床外科学会総会 (2001.10.11 横浜)

- 11 日裏 彰人, 佐竹 晃, 宮本 正章, 佐竹 克介, 井上 一知: 特別シンポジウム 3 21 世紀の移植医療-わが国における展望- バイオ人工膵の皮下移植-臨床応用に向けて-.

第74回日本生化学会大会 (2001.10.27.京都)

- 12 堀 洋, 顧 元駿, 王 文敬, 櫻井 智徳, 金 度勲, 佐竹 晃, 日裏 彰人, 長田 奈津紀, 野澤 真澄, 井上 一知: ブタ膵内分泌細胞分離・培養法の改良に関する検討.

American Pancreatic Association (2001.11.2, Chicago)

- 13 Satake A, Wang WJ, Gu YJ, Hiura A, Satake K, Inoue K. Xenotransplantation of encapsulated islets into prevascularized subcutaneous site.

6th International Conference on Tissue Engineering for Therapeutic Use (2001.11.25, Osaka)

- 14 Gu YJ, Hiura A, Hori H, Inoue K. Regenerative islet therapy for diabetes mellitus.

第4回移植遺伝子工学会 (2001.12.15 東京)

1 5 日裏 彰人, 井上 一知: シンポジウム(2) 膵の再生医学 膵島再生医療の開発.

第37回日本移植学会総会 (2001.12.16.東京)

1 6 顧 元駿, 堀 洋, 王 文敬, 奇 梅日更, 金 度勳, 櫻井 智徳, 佐竹 晃, 日裏 彰人, 井上 一知: ブタ膵内分泌細胞を用いたバイオ人工膵移植に関する検討.

第29回膵・膵島移植研究会 (2002.3.16 福島)

1 7 王 文敬, 顧 元駿, 堀 洋, 奇 梅日更, 日裏 彰人, 井上 一知: Macroencapsulization of porcine pancreas endocrine cells as bioartificial pancreas for subcutaneous xenotransplantation.

1 8 顧 元駿, 王 文敬, 堀 洋, 奇 梅日更, 日裏 彰人, 井上 一知: Isolation and xenotransplantation of macroencapsulated porcine pancreatic endocrine cells in pig-to-mouse model.

第1回日本再生医療学会 (2002.4.18 京都)

1 9 王 文敬, 顧 元駿, 堀 洋, 櫻井 智徳, 日裏 彰人, 角 昭一郎, 井上 一知: マイクロカプセル化ブタ膵内分泌細胞の皮下異種移植による糖尿病治療の検討.

2 0 顧 元駿, 王 文敬, 堀 洋, 奇 梅日更, 日裏 彰人, 角 昭一郎, 井上 一知: マイクロカプセル化ブタ膵内分泌細胞の腹腔内移植に関する検討.

2 1 角 昭一郎, 遠藤 真一郎, 北村 義則: ラット膵再生における膵管閉塞残置の影響.

2 2 金 度勳, 顧 元駿, 石井 通予, 奇 梅日更, 日裏 彰人, 堀 洋, 中村 直人, 吉川 敏一, 角 昭一郎, 井上 一知: マウス ES 細胞からインスリン分泌クラスターへの分化.

2 3 櫻井 智徳, 佐竹 晃, 顧 元駿, 田畑 泰彦, 角 昭一郎, 井上 一知: 血管新生誘導効率に優れた免疫隔離デバイスの開発.

2 4 奇 梅日更, 顧 元駿, 金 度勳, 堀 洋, 日裏 彰人, 角 昭一郎, 井上 一知: 新しいシートタイプバイオ人工膵に関する検討.

2 5 佐竹 晃, 櫻井 智徳, 岩永 飛鳥, 日裏 彰人, 堀 洋, 顧 元駿, 角 昭一郎, 田畑 泰彦, 井上 一知: ラット膵島の同種皮下移植における bFGF 除放デバイスの効果.

2 6 堀 洋, 井上 一知: シンポジウム 再生膵島細胞移植の現状と展望.

第102回日本外科学会総会 (2002.4.13 京都)

2 7 角 昭一郎, 遠藤 真一郎, 北村 義則, 小池 誠, 大森 浩志, 板倉 正幸, 矢野 誠司, 仁尾 義則: ラットの膵再生因子に関する研究.

5<sup>th</sup> World Congress of the International Hepato-Pancreato-Biliary association (2002.4.27 Tokyo)

2 8 Sumi S, Kitamura Y, Endo S, Toga T, Koike M, Iwasaki S, Omori H, Itakura M, Yano S, Nio Y, Higami T. Experimental Studies on the Role of Duct-obstructed Lobes in Pancreas Regeneration.

2 9 Hiura A. Symposium 14 "Stem cell biology and bioengineering" Regenerative islet therapy for diabetes mellitus.

第9回日本臓器保存生物医学学会総会 (2002.5.25 東京)

3 0 堀 洋, 角 昭一郎, 井上 一知: シンポジウム 糖尿病に対する膵島再生医療.

第75回日本内分泌学会学術総会 (2002.6.28)

3 1 堀 洋, 井上 一知: シンポジウム 再生膵島細胞移植とステムセルバイオロジー.

第22回日本アフェレシス学会 (2002.6.16 札幌)

3 2 日裏 彰人, 井上 一知: ワークショップ—再生医療とアフェレシス— 膵島再生医療.

29<sup>th</sup> Annual Meeting and Exposition of Controlled Release Society (2002. 7.22 Seoul)

3 3 Hiura A, Inoue K. Mini-Symposia "Drug Delivery for Diabetic Disease Treatment" Subcutaneous implantation therapy of macroencapsulated islets for diabetes mellitus.

International Symposium on Bioelectromagnetics (2002. 10.9 Kyoto)

3 4 Sakurai T, Satake A, Inoue K, Miyakoshi J. The effects of magnetic field on pancreatic islets and insulinoma cells.



第2回日本再生医療学会総会 (2003.3.11 神戸)

- 3 5 Kim DH, Inden M, Gu Y, Wu WO, Kondo J, Tsuchiya D, Taniguchi T, Kitamura Y, Sawada H, Hiura A, Sumi S, Shimohara S, Akaike A, Inoue K. Differentiation of functional dopaminergic neurons from embryonic stem cell for therapy of Parkinson disease.
- 3 6 Kim DH, Gu Y, Wu WO, Hiura A, Sumi S, Inoue K. Differentiation of cardiac muscle cells from embryonic stem cell in vitro.
- 3 7 奇 梅日更, 顧 元駿, 金 度勳, 白水 泰昌, 坂田 直昭, 日裏 彰人, 角 昭一郎, 井上 一知: カプセル膵島作製法に関する研究.

第30回膵膵島移植研究会 (2003.3.15 神戸)

- 3 8 白水 泰昌, 顧 元駿, 奇 梅日更, 坂田 直昭, 金 度勳, 佐竹 晃, 櫻井 智徳, 日裏 彰人, 角 昭一郎, 井上 一知: UW solution を用いたラット膵島の冷保存後の viability の比較検討.
- 3 9 奇 梅日更, 顧 元駿, 金 度勳, 白水 泰昌, 坂田 直昭, 日裏 彰人, 角 昭一郎, 井上 一知: PVA を用いたシートタイプカプセル化ラット膵島の in vitro における機能評価.

第26回医学会総会 (2003.04.6 福岡)

- 4 0 角 昭一郎, 井上 一知: パネル2 1世紀における再生医学の位置づけ: 成長因子と再生医学.

第46回日本糖尿病学会年次学術集会 (2003.05.22 富山)

- 4 1 奇 梅日更, 顧 元駿, 金 度勳, 白水 泰昌, 坂田 直昭, 日裏 彰人, 角 昭一郎, 井上 一知: PVA を用いたシートタイプカプセル化膵島作製法に関する研究.
- 4 2 白水 泰昌, 顧 元駿, 奇 梅日更, 坂田 直昭, 金 度勳, 佐竹 晃, 櫻井 智徳, 日裏 彰人, 角 昭一郎, 井上 一知: ラット膵島の冷保存後の viability の比較検討.

第48回日本透析医学会年次学術集会・総会 (2003.6.21 大阪)

- 4 3 日裏 彰人, 角 昭一郎, 井上 一知: 膵島再生医療の現状と展望.

第34回日本膵臓学会大会 (2003.7.11 千葉)

- 4 4 坂田 直昭, 顧 元駿, 奇 梅日更, 山本 ちづる, 角 昭一郎, 砂村 眞琴, 松野 正紀, 井上 一知: カプセル化人工膵島移植は糖尿病性腎症を予防できるか.
- 4 5 白水 泰昌, 顧 元駿, 奇 梅日更, 坂田 直昭, 金 度勳, 佐竹 晃, 櫻井 智徳, 日裏 彰人, 角 昭一郎, 井上 一知: ラット膵島の冷保存後の viability の比較検討.

第18回日本糖尿病合併症学会 (2003.10.10 京都)

- 4 6 坂田 直昭, 顧 元駿, 奇 梅日更, 山本 ちづる, 角 昭一郎, 砂村 眞琴, 松野 正紀, 井上 一知: 糖尿病マウスの腎機能と生存期間に対するカプセル化異種膵島移植の効果に関する検討.

第46回日本移植学会 (2003.10.27 大阪)

- 4 7 白水 泰昌, 顧 元駿, 櫻井 智徳, 古賀 まり, 奇 梅日更, 坂田 直昭, 日裏 彰人, 角 昭一郎, 井上 一知: ラット膵島の冷保存後の viability の比較検討.
- 4 8 坂田 直昭, 顧 元駿, 奇 梅日更, 山本 ちづる, 角 昭一郎, 砂村 眞琴, 松野 正紀, 井上 一知: カプセル化人工膵島移植の糖尿病性腎症に対する効果.

7<sup>th</sup> International Xenotransplantation Congress 2003 (2003.10.1 Glasgow)

- 4 9 Kim DH, Inden M, Gu Y, Kitamura Y, Sumi S, Inoue K, Shimohara S. Induction of dopamine neurons from embryonic stem cells for Parkinson's disease.

American Pancreatic Association 2003 (2003.11.6 Chicago)

- 5 0 Sakata N, Gu Y, Qi MG, Yamamoto C, Sumi S, Inoue K. Can bio-artificial pancreas prevent diabetic nephropathy? -an experiment of islet xenotransplantation in mice-.

## 研究成果

以下に、年度別に主要な研究成果を記した。なお、肩文字は研究発表（学会誌等）の文献番号である。

### 平成13年度

幹細胞の分化誘導によるインスリン産生細胞の開発においては、マウス胎性幹細胞の分化誘導を試み、独自の方法で、従来報告されていない優れた機能を有する細胞を作製し、より詳細な解析を実施した。これとは別に、本来は際限なく分裂・増殖するインスリノーマ細胞であるMIN6細胞を、培養条件の操作により、増殖能が弱くブドウ糖濃度に応じたインスリン分泌反応を示す細胞塊に変化させ<sup>9</sup>、これをバイオ人工膵に加工することで、少なくとも一ヶ月間、*in vitro* で良好な形態と機能を維持させることに成功した。類似の方法は本研究で分化誘導されてくるインスリン産生細胞にも応用可能であることが期待される。

ヒトに応用可能な皮下移植タイプのバイオ人工膵デバイスの開発においては、イヌを用いた動物実験でその有用性を検討し、免疫隔離膜の組成や形態の詳細に関して最適化を図るべく試行した。その中で、下記抗補体作用ポリマーなどの併用やより移植に適した形状の開発を行った。

皮下移植前処置処置用血管誘導デバイスの作製と改良は、basic fibroblast growth factor を徐放性に遊離するデバイスを作製し、膵島の同種皮下移植における有用性を確認した<sup>1</sup>。さらに、抗補体作用を有するポリマーを用いた新規のバイオ人工膵技術との併用により、小動物間の異種膵島移植に成功し、ラットの膵島を用いてマウスの糖尿病を長期間にわたりコントロールすることが可能であった<sup>11</sup>。これにより、本研究の目的の一部である、糖尿病モデル動物におけるバイオ人工膵皮下移植システムの有効性が、小動物においてはほぼ確立し得たものと考えられる。

### 平成14年度

マウス ES 細胞を独自の方法で分化誘導して膵島様細胞塊 (ICC, islet-like cell cluster) を作製し、電子顕微鏡を用いてインスリン分泌顆粒を確認した。また、その過程における膵特異的遺伝子発現を確認するとともに、マウス糖尿病モデルに移植して2週間程度の血糖低下を観察した<sup>17</sup>。体性幹細胞からの膵島細胞分化誘導については、臨床的にも比較的利用しやすい骨髄中の細胞が *in vivo* で膵組織へ組み込まれる可能性、および、*in vitro* の培養によってインスリン産生細胞を誘導し得る可能性についての予備的実験を行った。

前年度に実施したラット膵島を用いた実験にかわり、ブタ膵内分泌細胞を分離精製して抗補体作用ポリマーを含む高分子ゲルに包埋することでマクロデバイスを作製した。これを、血管誘導前処置を施した皮下組織内へ移植することで、マウス糖尿病モデルの血糖を長期間にわたり正常化することに成功した<sup>15</sup>。類似の方法を用いて、糖尿病モデルとして膵全摘犬を作製し、腹腔内に上記のブタ膵内分泌細胞を組み込んだマクロデバイスを移植し、血糖を測定すると共に、ブタ C-ペプチド特異的アッセイ系を用いて移植した細胞の機能を検討した。但し、このバイオ人工膵デバイスは大型化に若干の問題があり、さらなる最適化が必要である可能性が示唆された。

免疫隔離膜として、生体親和性が高く毒性が低いと考えられるポリビニルアルコール (PVA) を用いたマクロデバイス作成法を新規に開発し、異種移植での有効性を確認する実験を施行した。マクロカプセル型バイオ人工膵の皮下移植には、前処置として皮下組織への血管誘導が必要であるが、従来用いられているコラーゲンスポンジに代えてコラーゲン被覆した PVA デバイスを用いても、良好な血管誘導が可能であることを示した<sup>18</sup>。

## 平成 15 年度

マウス ES 細胞から ICC を分化誘導する実験では、前年度の *in vivo* での効果確認ののち、その分化過程をより詳細に検討する目的で、分化の各段階における RNA を抽出してマイクロアレイにより各遺伝子発現の変化を網羅的に解析する実験を行った。体性幹細胞の研究では、骨髄由来細胞の膵組織再生への組み込みを検討するため、前年度に引き続き、GFP マウスを用いた実験を継続した。

バイオ人工膵デバイスの研究では、PVA を材料とし、膵島細胞凍結保存技術を応用した全く新しい作製方法を確立し、ラット膵島を用いた糖尿病マウスの *in vivo* での治療実験を行い、有効性を確認した<sup>19</sup>。さらに、バイオ人工膵の糖尿病合併症への効果を検討するため、糖尿病マウスに上記デバイスを移植し、約2ヶ月にわたり血液・尿・腎組織所見を検討して、その有効性を確認した。また、ラット培養膵島に対するヒト新鮮血漿による組織障害を検討し、これに対して、上記 PVA デバイス化が有効であることを確認した。この新規 PVA デバイスは、従来のチューブ型やバッグ型と異なり、最終的に移植可能な膵島を組み込んだ形に仕上げるまでの作製法が容易で、大型化も格段に容易である点で大きな利点と可能性を有している。今後は、このデバイスの最適化によって、将来的な臨床応用を目指すインスリン糖尿病モデル治療実験において飛躍的な成績向上が期待される。

血管新生に関する実験では、ラット背部の虚血性皮膚壊死（皮弁）モデルを作製し、これに対する新規血管誘導処置の効果を検討している。また、各種薬剤の応用可能性を探る目的で、上記虚血性皮弁モデルと、新規の方法で作成した比較的長期間にわたり虚血状態を持続するラット下肢モデルを用いて、抗狭心症薬であるニコランジル慢性経口投与の検討をおこなった。これらの成果はすでに口頭で発表あるいは発表予定であり、現在論文化の作業を推進中である。

本研究課題にたいする補助金は当初5年間の予定で開始され、平成15年度に行われた中間評価で良好な評価結果を頂いたにもかかわらず、平成16年度以降の内定額が0円とされ、3年間で打ち切りとなりました。この打ち切りは、研究代表者であった井上一知先生が平成14年4月に提出された任期制教官の再任申請が拒否され、平成15年4月末をもって任期満了とされたことと関連して決定されたものと思われます。本研究の高い価値を信じて研究を遂行し止むを得ず途中で交替した研究代表者としては、このたびの研究助成打ち切りによって当初の研究計画が頓挫し、今後の研究展開が大きく障害されることは大変残念です。しかしそれ以上に、本研究を高く評価された審査員の先生方や、この研究成果を待ち望んでおられる内外の多数の患者さんの強いご期待に応えることができないことは誠に申し訳なく、遺憾に存じます。計画半ばで頓挫したとはいえ、この3年間の成果を基に、ステムセルバイオロジーを応用した膵島再生医療の実用化へ向けた努力を今後も継続してゆくことが、ご期待にお応えする道であると考えます。